

不同前处理的冻融荔枝果壳色泽和 微观结构比较分析

梁展鸿^{1,2}, 吴炜俊², 程丽娜^{2*}, 徐玉娟², 吴继军², 余元善², 邹波², 胡坤^{1*}

(1. 广东药科大学食品科学学院, 广东中山 528400)(2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

摘要: 该研究探讨了护色保脆前处理对冻融后的荔枝果壳酚酶氧化、细胞完整性及褐变抑制等品质特性的影响。结果显示, “8% C₆H₈O₇+0.5% Vc+1% CaCl₂”前处理组的色泽与新鲜荔枝最为接近, 与对照组相比, 其相对电解质渗出率和汁液流失率分别降低 18.71% 和 0.92%, 硬度保留率提高了 14.17%, 多酚氧化酶和过氧化物酶的残余酶活力分别降低 158.18% 和 342.14%, 多酚、花色苷含量、抗氧化能力保留率分别提高了 9.79%、27.11% 和 10.21%。柠檬酸的护色效果较 Vc 佳, CaCl₂ 在保脆中起着关键作用, 三个护色保脆试剂之间具有协同增效的作用, 其中, Vc 需在氯化钙存在时, 才能显现出对细胞完整性的保护效果; 0.5% Vc (m/V) 与柠檬酸、氯化钙之间具有协同增效护色钝酶、保护质构的效果; 柠檬酸浓度越高对硬度的保护效果越好。总而言之, “8% C₆H₈O₇+0.5% Vc+1% CaCl₂”前处理组可作为速冻荔枝的适宜护色保脆前处理模式。该研究结果可以为荔枝保鲜加工提供技术支持。

关键词: 荔枝; 护色保脆; 果壳; 色泽; 微观结构

文章编号: 1673-9078(2025)01-211-220

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.1.1544

Comparison of Effects of Different Pretreatments on Color and Microstructure of Frozen-thawed Litchi Pericarp

LIANG Zhanhong^{1,2}, WU Weijun², CHENG Lina^{2*}, XU Yujuan², WU Jijun², YU Yuanshan², ZOU Bo², HU Kun^{1*}

(1.School of Food Science, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528400, China)

(2.Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: The effects of color and crispness preservation pretreatments on frozen-thawed litchi pericarp were investigated in
引文格式:

梁展鸿, 吴炜俊, 程丽娜, 等. 不同前处理的冻融荔枝果壳色泽和微观结构比较分析 [J]. 现代食品科技, 2025, 41(1):211-220.

LIANG Zhanhong, WU Weijun, CHENG Lina, et al. Comparison of effects of different pretreatments on color and microstructure of frozen-thawed litchi pericarp [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 211-220.

收稿日期: 2023-12-25

基金项目: 广州市科技计划项目 (2023B01J2004); 广东省农业科学院“十四五”农业优势产业学科团队 (202109TD); 广东省科学技术协会青年科技人才培养计划 (SKXRC202318); 广州市科协青年托举人才 (QT20220101055); 广东省乡村振兴战略专项资金 (农业科技能力提升) 项目 (2023TS-2-5); 广东省农业科学院科技人才引进专项资金项目 (R2020YJ-YB2001)

作者简介: 梁展鸿 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: syo211@163.com

通讯作者: 程丽娜 (1990-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 果蔬非热加工, E-mail: linake125@163.com; 共同通讯作者: 胡坤 (1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品添加剂、食品蛋白质与胶体科学、食品功能因子的微载体输送体系等, E-mail: huk88@126.com

this study, including the effects on phenolase oxidation, cell integrity, browning, and other quality attributes. The results show that the color and shine of the litchi pretreated with 8% $C_6H_8O_7$ + 0.5% Vc + 1% $CaCl_2$ closely resemble those of fresh litchi. Compared to those of the control group, the relative electrolyte exudation rate and the juice loss rate of litchi after this pretreatment are decreased by 18.71 and 0.92%, respectively. In addition, the hardness retention rate is increased by 14.17%, while the residual enzyme activities of polyphenol oxidase and peroxidase are decreased by 158.18 and 342.14%, respectively. Meanwhile, the contents of polyphenols and anthocyanins and the antioxidant capacity retention rate increased by 9.79, 27.11, and 10.21%, respectively. Citric acid is found to be more effective in color preservation than Vc, while $CaCl_2$ plays a critical role in maintaining crispness. Synergistic effects are noted among the three color- and crispness-preserving agents. In particular, the protective effects of Vc on cell integrity are observed only in the presence of $CaCl_2$. The combination of 0.5% (*m/V*) Vc with citric acid and $CaCl_2$ synergistically show enhanced color preservation and texture protection against enzymes. Hardness is better preserved at higher citric acid concentrations. In conclusion, pretreatment with 8% $C_6H_8O_7$ + 0.5% Vc + 1% $CaCl_2$ can be considered as a suitable solution for color and crispness preservation of frozen litchi. The results of this study can provide technical support for the preservation and processing of litchi.

Key words: litchi; color and crispness preservation; pericarp; color and shine; microstructure

荔枝是一种常绿乔木,起源于我国,栽培历史悠久,主要种植于华南地区,并被称为“果中珍宝”^[1]。荔枝以其良好的口感和丰富的营养成分而受到广大消费者的认可。中国是世界上最大的荔枝生产国和出口大国,根据国家荔枝龙眼产业体系调研推算数据显示,2022年,我国荔枝种植面积约为789.11万亩,荔枝总产量达到253.1万t。然而,荔枝采摘后易受机械性损伤和微生物等影响,导致品质下降,货架期很短。因此,开发更高效、安全的贮藏技术,延长荔枝的贮藏期已成为当前亟待解决的问题^[2]。

冷冻是一种常用且有效的贮藏方式。Liang等^[3]在荔枝冷冻(-35℃)研究中表明,浸渍冷冻处理可保护荔枝微观结构并且降低汁液流失率,使荔枝的贮藏期延长6个月。课题组前期研究发现^[4],液氮喷雾速冻和梯度解冻是一种适宜荔枝冻融的联合处理方式,但解冻后荔枝在储藏存放过程中果壳极易发生褐变且变软。因此,需对荔枝进行冻结前的护色保脆前处理。

荔枝果壳在解冻后出现的褐变现象,主要归因于氧化还原酶,尤其是多酚氧化酶和过氧化物酶。这两种酶在荔枝果壳中催化多酚类化合物的氧化反应,导致色素的生成和积累,从而引起褐变。为了有效控制这一不利变化,保持荔枝的新鲜度和品质,在冻融处理和冷冻贮藏过程前可向荔枝添加护色剂^[5]。Moon等^[6]研究发现,柠檬酸和草酸等铜螯合剂能够通过多与多酚氧化酶中的金属辅因子结合来抑制多酚氧化酶的活性。此外,有研究表明Vc可用于保持水果新鲜的颜色,或作为速冻水果的预处理。

它可以单独使用,也可以与其他物质混合使用,以防止褐变^[7]。Jain等^[8]研究表明,氯化钙处理可以影响果实的硬度和细胞壁成分,从而通过维持膜的完整性和增加细胞壁硬度,在果实贮藏期间起到保鲜作用。

目前关于冻融荔枝护色保脆前处理的研究相对匮乏,一定程度上阻碍了荔枝的市场化。因此,本研究重点探讨探讨护色、保脆前处理对冻结荔枝解冻后果壳品质的影响,解析各护色保脆剂及不同组合护色保脆剂的作用,确定适宜的护色保脆前处理配方,为进一步提升冻融荔枝品质提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

本研究以怀枝作为研究对象,采自广东广州从化荔枝园,挑选大小形状均一(直径约4cm)、无损伤、无虫害的完整荔枝,护色保脆处理后,采用真空包装袋(13×18cm)进行包装,存放于4℃冷库预冷12h,以备待用。Trolox,美国Sigma公司;邻苯二酚、愈创木酚,天津福晨化学试剂有限公司;Folin-Ciocalten,上海源叶生物科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器

DJL-QF液氮喷雾速冻机,深圳市德捷力冷冻科技有限公司;TA.XPlus质构仪,英国Stable Micro System公司;Ultra Scan VIS全自动色差仪,美国Hunter Lab公司;Infinite M200 PRO酶标仪,瑞士

TECAN 公司; SHPP-57DZM-600 超高压设备, 美的有限公司; S230 电导率仪, 梅特勒-托利多仪器有限公司; SU8020 电子扫描显微镜, 日本日立公司; TC-08 热电偶温度采集仪, 美国 Omega Engineering 公司; CR22G III 高速冷冻离心机, 日本日立公司; UV1800 紫外分光光度计, 日本岛津公司。

1.2 实验方法

1.2.1 护色、保脆实验方案

如表 1 所示, 荔枝进行不同组合模式的护色 [5%/6.5%/8% $C_6H_8O_7$ (m/V), 0.5% Vc (m/V), 固液比 1:1, 室温静置 2 h] 和保脆 [1% $CaCl_2$ (m/V), 固液比 1:1, 室温静置 2 h] 前处理, 并与未处理组 (CK) 作对比。护色处理后进行速冻, 速冻采用液氮喷雾速冻机, 设置处理温度为 $(-100 \pm 2)^\circ C$, 冷冻实验以样品核心温度达到 $-20^\circ C$ 为终点; 冻结后, 进行梯度解冻 ($-20^\circ C \sim -5^\circ C \sim -4^\circ C$) 以样品核心温度达到每一阶段的环温为终点, 测定荔枝品质变化指标。

表 1 不同组合护色与保脆前处理方式

Table 1 Different combination of colour protection and crisp pretreatment methods

处理组	处理方式
G1	8% $C_6H_8O_7$
G2	8% $C_6H_8O_7$ +0.5% Vc
G3	8% $C_6H_8O_7$ +0.5% Vc+1% $CaCl_2$
G4	8% $C_6H_8O_7$ +1% $CaCl_2$
G5	5% $C_6H_8O_7$ +0.5% Vc+1% $CaCl_2$
G6	6.5% $C_6H_8O_7$ +0.5% Vc+1% $CaCl_2$
G7	CK

注: $C_6H_8O_7$ 为柠檬酸分子式。以上百分含量均为质量分数 (m/V)。

1.2.2 理化指标测定方法

1.2.2.1 色泽

采用全自动色差仪测定待测解冻前后荔枝果壳的色泽变化, 记录光度值 L^* 、红绿值 a^* 和黄蓝值 b^* , 以新鲜荔枝样品的色泽作比较, 色泽变化值 ΔE 计算公式分别如式 (1)^[9]:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

式中:

ΔE —荔枝样品果壳的色泽变化值;

L^* —解冻后荔枝样品果壳的光度值;

L_0^* —新鲜荔枝样品果壳的光度值;

a^* —解冻后荔枝样品果壳的红绿值;

a_0^* —新鲜荔枝样品果壳的红绿值;

b^* —解冻后荔枝样品果壳的黄蓝值;

b_0^* —新鲜荔枝样品果壳的黄蓝值。

1.2.2.2 相对电解质渗出率 (Relative Electrolyte Leakage, REL)

参考 Yang 等^[10]测定方法, 用打孔器获得厚薄均匀、大小一致 (5 mm) 的冻融荔枝果壳圆片, 将其加入 20 mL 蒸馏水中于室温下静置 30 min, 采用电导仪测定初始电解质的电导率 (L_0); 继续沸水浴 15 min, 在冰浴下快速冷却, 再次测定电导率 (L_t), 结果以相对电解质渗出率 ($Y\%$) 表示, 计算公式如式 (2):

$$Y = \frac{L_t}{L_0} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.2.3 汁液流失率 (Weightloss, WL)

参考 Utrera 等^[11]测定方法, 称量冷冻前、解冻后的样品重量, 分别为 m_1 、 m_2 , 汁液流失率计算公式如式 (3):

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

W —荔枝样品的汁液流失率, %。

1.2.2.4 硬度

采用配备 p50 圆柱形探头的质构仪对待测荔枝样品进行硬度测试, 测试前速度为 1.60 mm/s, 测试中速度为 0.8 mm/s, 测试后速度为 2.00 mm/s, 压缩变性程度设定为 30.0%, 触发力为 5.0 g, 测试时间为 10 s, 以两次压缩最大峰值的平均值作为样品硬度指标, 每组样品随机选取并进行了 15 次平行。

1.2.2.5 多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD) 残余酶活力

荔枝果壳采用预冷研磨机研磨成粉, 取 5 g 果壳粉末, 加入 20 mL $4^\circ C$ 预冷缓冲溶液 (50 mmol/L, pH 值为 6.8 的钠磷酸盐溶液 (PBS), 内含 5% (m/V) 聚乙烯吡咯烷酮), 离心, 取上清液作为粗酶液。PPO、POD 活性测定分别参考 Ma 等^[12]和 Li 等^[13]的方法, 分别在 $OD_{410\text{ nm}}$ 、 $OD_{470\text{ nm}}$ 处测定吸光值, 每分钟变化 0.001 为一个酶活单位, 结果以多酚氧化酶残余酶活力 ($R\%$) 和过氧化物酶残余酶活力 ($P\%$) 表示, 计算公式如 (4) (5):

$$R = \frac{T_t}{R_0} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

R_t ——进行不同组合护色和保脆前处理的冻融荔枝的多酚氧化酶的酶活力;

R_0 ——新鲜荔枝组的多酚氧化酶酶活力。

$$P = \frac{P_t}{P_0} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

P_t ——进行不同组合护色和保脆前处理的冻融荔枝的过氧化物酶的酶活力;

P_0 ——新鲜荔枝组的过氧化物酶的酶活力。

1.2.2.6 多酚、花色苷、DPPH 自由基清除率

取荔枝果壳 2 g, 多酚测定方法参考吴炜俊等^[14]。花色苷含量测定参考 Jiang 等^[15]的方法, 花色苷提取液在分光光度计上分别测 510 nm 和 700 nm 的吸光度:

$$A = (A_{510} - A_{700})pH_{1.0} - (A_{510} - A_{700})pH_{4.5} \quad (6)$$

则粗提物样品液中花色苷的浓度为:

$$C = \frac{(A \times M_w \times f \times 1000) \times V}{\epsilon \times l \times m} \quad (7)$$

式中:

C ——粗提物样品液中花色苷的浓度, mg/100 g;

M_w ——花色苷的分子量 449.2;

f ——稀释因子;

ϵ ——主要花色苷的摩尔吸收率 26 900。

采用酶标板法测定 DPPH, 具体参考 Sokol-Letowska 等^[16]方法, 样品对 DPPH 自由基清除能力以 Trolox 当量 (mg/g) 表示。DPPH 清除率 ($D\%$) 按式 (8) 计算:

$$D = \frac{(A_1 - A_0) - (A_i - A_j)}{A_1 - A_0} \times 100\% \quad (8)$$

式中:

A_1 ——对照组吸光度;

A_0 ——试剂空白组吸光度;

A_i ——样品组吸光度;

A_j ——样品空白组吸光度。

1.2.2.7 微观结构

参考吴炜俊等^[14]方法并稍作修改, 采用扫描电子显微镜 (SEM) 对待测荔枝样品进行微观结构观察。

1.3 数据处理

采用 SPSS 24.0 对数据进行 ANVOA 分析和显著性比较, 当 $P < 0.05$ 时, 表明具有显著性差异。所有实验均进行 3 次平行, 结果以平均值 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示。

2 结果与讨论

2.1 色泽变化

如图 1 所示, 不同组合前处理对冻融荔枝果壳色泽影响显著 ($P < 0.05$)。 a^* 值按大小可分为: $G3 > G2 > G4 \geq G6 > G1 \geq G5 > G7$; 色泽 (L^* 、 a^* 、 b^* 值) 较新鲜荔枝组, 均呈现降低趋势, CK 组处理效果最差, 其中 a^* 值下降尤为明显, 降幅高达 36.42%; 添加柠檬酸的护色效果显著, 且随着柠檬酸浓度的增加, 护色效果会更加明显, 进一步添加 Vc 或氯化钙对荔枝果壳的护色效果越显著。其中, G3 处理效果最优, L^* 、 a^* 、 b^* 值与新鲜荔枝组最为接近, ΔE 值 (5.04) 最小; 8% 柠檬酸处理组 (G1-G4) 的 a^* 值和 b^* 值是大于 5% 柠檬酸处理组 (G5); 但其中 G1 和 G4 处理组的 a^* 值与 6.5% 柠檬酸处理组 (G6) 无明显差异, 小于 0.5% Vc 处理组 (G2-G3), 说明 8% 和 6.5% 的柠檬酸是体现护色效果的关键浓度, 而 0.5% Vc 与柠檬酸、氯化钙之间具有协同增效护色钝酶的效果。一般而言, 荔枝果壳的色泽来源主要是花青素, 溶液中的钙离子可发生离子的螯合作用, 对提高花青素在细胞液中的稳定性具有一定的作用较高时能对褐变酶类活性具有较好的抑制作用, 进而降低果实的褐变程度, 使其色泽和亮度保持较好的稳定性。Li 等^[17]研究发现, Vc 具有较强的还原性, 可与多酚氧化酶辅基发生络合效应, 进而抑制或降低酶促褐变。氯化钙、柠檬酸和 Vc 和在荔枝果壳护色过程中相互协同, 能减少酚类物质的降解和抑制酶促褐变; 因此, 综合得出 G3 处理效果最好且对荔枝色泽保护效果最好。

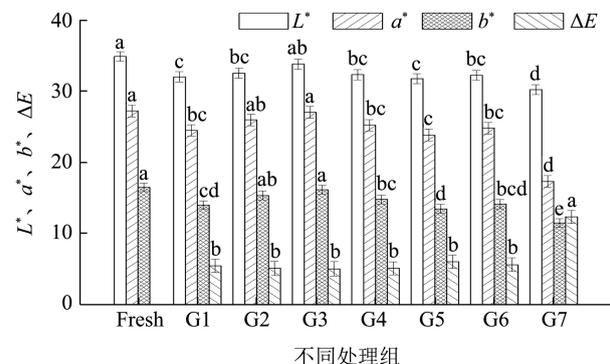


图 1 不同组合前处理对冻融荔枝果壳色泽的影响

Fig.1 The effect of different pretreatment combinations on the colour of frozen-thawed litchi pericarp

注: 不同处理同一系列字母不同代表组间具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

2.2 相对电解质渗出率和汁液流失率变化

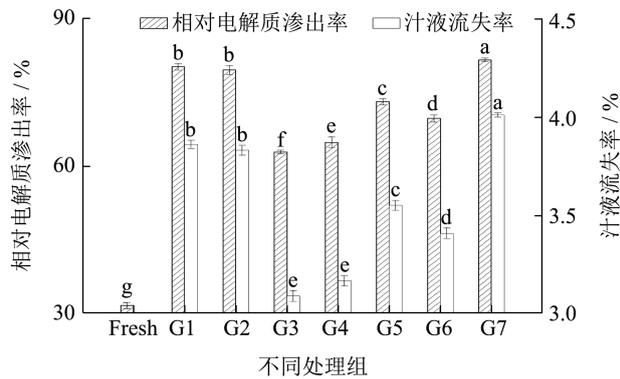


图2 不同组合前处理对冻融荔枝果壳相对电解质渗出率和汁液流失率的影响

Fig.2 The effect of different pretreatment combinations on relative electrolyte exudation rate and the rate of juice leakage in frozen-thawed litchi pericarp

注：不同处理同一系列字母不同代表组间具有显著性差异， $P < 0.05$ 。

不同组合护色与保脆前处理对冻融荔枝中相对电解质渗出率 (REL) 和汁液流失率 (WL) 的影响如图 2 所示，各组间均具有显著性差异 ($P < 0.05$)，相对电解质渗出率和汁液流失率按大小可分为： $G7 > G1 \geq G2 > G5 > G6 > G4 > G3$ ；经冻融处理后，各处理组 REL 较新鲜荔枝组呈现增大趋势，因而对应会引起不同程度的汁液流失；其中 CK 组相对 REL 和 WL 最高，前者较新鲜荔枝组增大了 1.57 倍，说明其细胞通透性或完整性等特性发生一定程度劣变。其中，G1 与 G2 处理组之间的 REL 和 WL 无显著差异，G4 与 G3 处理组之间 REL 差异显著，说明单独的柠檬酸和 Vc 组合，并不能体现出 Vc 的保护效果，当 CaCl_2 存在时，展现出对细胞特性的一定保护作用；氯化钙处理组 (G3、G4、G5、G6) 具有显著的优势且较优于单纯护色组 (G1、G2)，这可能是由于样品经氯化钙溶液处理后，钙离子与细胞壁中的果胶酸反应结合生成果胶酸钙，柠檬酸对果胶酸钙的合成具有促进效果，并在一定程度上起到保护作用，且氯化钙和柠檬酸可与细胞中的离子发生螯合作用，两者联合使用能够较好地保持细胞壁结构的完整性，减小细胞内容物的流出，对应降低相对电解质渗出率和汁液流失率^[18,19]。这种钙离子的螯合作用可在果实组织内部中形成复杂的网络结构，产生良好的不透性水膜，Batista 等^[20]研究表明添加钙离子的交联

膜与未添加交联剂的膜相比，其水蒸气渗透率降低 44%。抗张强度提高 26%，因而可阻止细胞内容物外渗，进而降低相对电解质渗出率^[21]。G3 组处理效果最佳，相对电解质渗出率 (62.89%) 和汁液流失率 (3.09%) 均为最低，说明 8% $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ + 0.5% Vc + 1% CaCl_2 是保护冻融荔枝果壳细胞特性的最佳前处理配方。

2.3 硬度变化

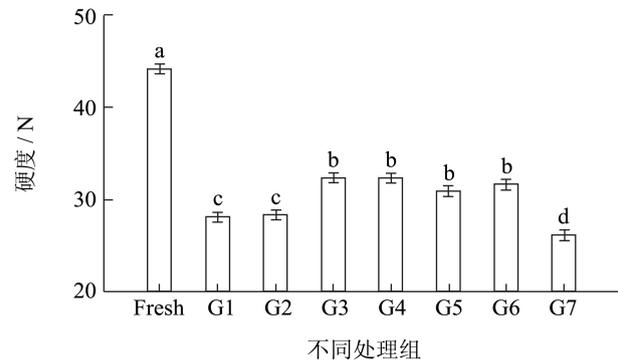


图3 不同组合前处理对冻融荔枝硬度的影响

Fig.3 The effect of different pretreatment combinations on the hardness of frozen-thawed litchi

注：不同处理同一系列字母不同代表组间具有显著性差异， $P < 0.05$ 。

不同组合前处理对冻融荔枝硬度的影响结果如图 3 所示，荔枝经冻融后，硬度均有明显降低，各处理组间具有显著性差异 ($P < 0.05$)，硬度按大小可分为： $G3 \geq G4 \geq G6 \geq G5 > G2 \geq G1 > G7$ ；荔枝解冻后，前处理组的硬度显著高于 CK 组，总体变化趋势与相对电解质渗出率和汁液流失率相对应；其中，氯化钙处理组 (G3-G6) 较在硬度保留上具有显著的优势，较新鲜荔枝组仅分别降低了 11.83%、11.87%、13.24% 和 12.51%；较 CK 组提高了 6.25%、6.22%、4.85% 和 5.57%。这主要是由于氯化钙能与多糖苷链上的羧基集团之间形成钙桥，同时钙离子还可与细胞内的果胶酸反应生成果胶钙，以减少水溶性果胶的形成和降低原果胶降解，细胞壁的稳定性和中胶层弹性得以增强，进而在一定程度上有利于维持果实的硬度^[19]。G3 处理组硬度大于 G4 处理组，说明添加 Vc 在一定程度上能够进一步增强氯化钙和柠檬酸的保护效果。Awad 等^[22]在抗褐变剂对鲜切绿豆荚品质影响的研究中发现，Vc 可以显著降低绿豆荚的软化，可能是 Vc 可降低体系中 pH 值，能够抑制细胞中的酶

类转化、组织软化及其生理代谢活动，从而对组织解体有一定的抑制作用。G4 处理组的硬度大于 G6 处理组和 G5 处理组，分别提高了和 7.77% 和 3.07%，说明柠檬酸浓度越高对硬度的保护效果越好。这主要是因为柠檬酸也是一种螯合剂，通过其结构中的未共用电子与铜形成稳定的络合物，有效降低铜离子在溶液中的自由浓度，进而减少铜离子参与的催化氧化反应^[23,24]，在 Alali 等^[25]对桃果的研究中指出，当柠檬酸浓度为 3 mmol/L 或更高时，其作为螯合剂的作用显著，减缓了果实的软化程度。

2.4 酶活性变化

不同组合护色保脆前处理对冻融荔枝果壳酶活性 (PPO、POD) 影响如图 4 所示，各处理组间具有显著性差异 ($P < 0.05$)，酶活性按大小可分为：G7 > G5 > G1 > G4 > G6 > G2 > G3，总体变化趋势与色泽变化相对应。相对新鲜荔枝组，荔枝经冻融后会导致酶活性不同程度地增加，这可能是因为蛋白质分子的一级结构稳定性是由共价键形成的，如肽键和二硫键均属于共价键，在冷冻过程中不同的水合压缩作用而引起蛋白质内部结构变化，进而导致肽链展开和疏水性残基暴露^[26]。Yang 等^[27]探究了 β -hairpin 在常压下的冷冻变性，研究发现冷冻变性会诱导氢键丢失和天然疏水基团被破坏。而酶活性体现在其分子构象的酶活中心，且酶活中心及其周围分子环境的变化在宏观上表现为酶活力的变化。由此可猜测，冻融过程可能会使酶的活性受到激活，进而诱导酶蛋白分子结构稳定性发生改变。其中，G3 组表现出明显的优势，较 CK 组 PPO 和 POD 残余活性分别降低了 158.17% 和 342.14%；8% 柠檬酸处理组 (G1-G4) 的残余酶活是小于 5% 柠檬酸处理组 (G5)；但其中 G1 和 G4 处理组是大于 6.5% 柠檬酸处理组 (G6)，小于 0.5% Vc 处理组 (G2 和 G3)，说明 6.5% 的柠檬酸是体现护色效果的关键浓度，0.5% Vc 与柠檬酸、氯化钙之间具有协同增效护色钝酶的效果。钙离子对细胞壁的完整性具有促进作用，适量的钙离子可以保护果壳组织结构，减少游离态酶的释放，并延缓酶促反应的发生^[20]；随着柠檬酸浓度的升高能够螯合铜离子且可降低体系中的 pH 值，多酚氧化酶和过氧化物酶的酶活性也随之降低^[28]；而 Vc 可以清除自由基并减少果壳组织中的氧含量，有效地抑制 PPO 和 POD 活性^[29]。综上，柠檬酸、氯化钙和 Vc 在降低多酚氧化酶和过氧化

物酶的酶活力方面存在协同作用，G3 组合是维持冻融荔枝果壳色泽特性的有效配方。

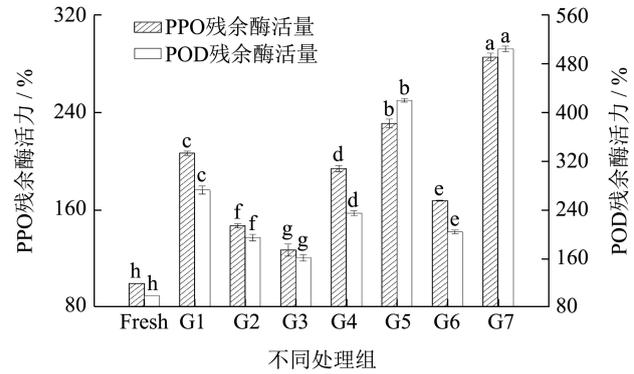


图 4 不同组合前处理对冻融荔枝果壳多酚氧化酶和过氧化物酶的残余酶活力

Fig.4 The effect of different pretreatment combinations on residual activities of polyphenol oxidase and peroxidase of frozen-thawed litchi pericarp

注：不同处理同一系列字母不同代表组间具有显著性差异， $P < 0.05$ 。

2.5 多酚、花色苷含量和抗氧化能力变化

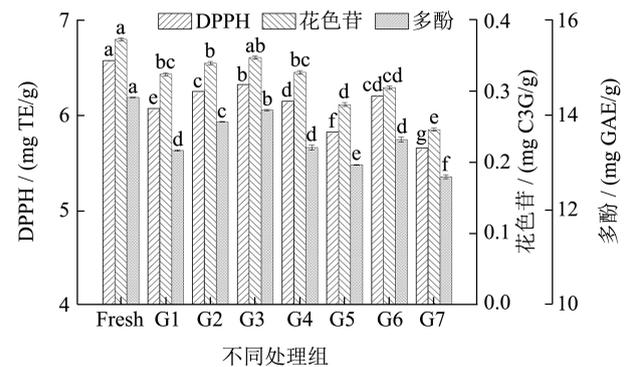


图 5 不同组合前处理对冻融荔枝果壳多酚、花色苷含量和 DPPH 抗氧化能力的影响

Fig.5 The effect of different pretreatment combinations on contents of polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity of DPPH in frozen-thawed litchi pericarp

注：不同处理同一系列字母不同代表组间具有显著性差异， $P < 0.05$ 。

不同组合前处理对冻融荔枝果壳多酚、花色苷含量和抗氧化能力的影响结果如图 5 所示，果壳多酚和花色苷含量明显降低，对应抗氧化能力也显著下降，各处理组间均存在显著性差异三者的变化趋势大体一致，按多酚的保留效果排序：G3 > G2 > G6 ≥ G4 ≥ G1 > G5 > G7，总体变化趋势与色泽变化一致；其中，G3 组表现出明显的优势，多酚、花

色苷含量和抗氧化能力较新鲜荔枝组仅分别降低约 1.85%、6.88% 和 3.78%，较 CK 组分别提高 9.79%、27.11% 和 10.21%；8% 柠檬酸处理组（G1~G4）的多酚、花色苷含量和抗氧化能力是大于 5% 柠檬酸处理组（G5）；但其中 G1 和 G4 处理组的抗氧化能力是小于 6.5% 柠檬酸处理组（G6），小于 0.5% Vc 处理组（G2、G3），说明 6.5% 的柠檬酸是体现护色效果的关键浓度，0.5% Vc 与柠檬酸、氯化钙之间具有协同增效护色钝酶的效果，这与酶活性变化实验的结果是一致的。

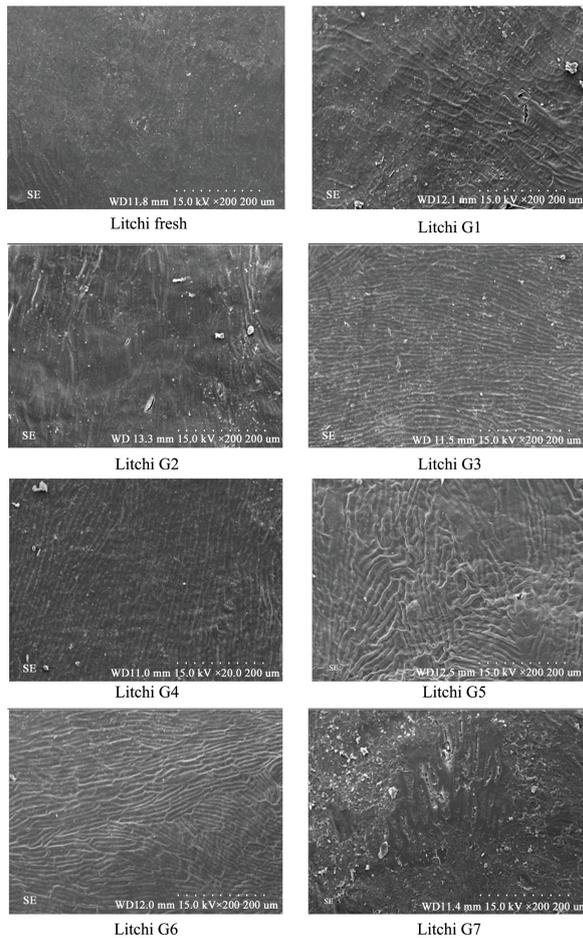


图 6 不同前处理模式对冻融荔枝果壳微观结构的影响

Fig.6 The effect of different pretreatment combinations on the microstructure of frozen-thawed litchi pericarp

酶促褐变是导致荔枝果壳色泽变化关键因素之一，PPO 与 POD 是引起酶促褐变的主要酶类，而多酚和花色苷作为一种具有自由基清除能力的抗氧化性物质，能有效抑制酶促褐变，从而影响荔枝果壳的色泽保持和质地脆度。因此，护色保脆效果、酶类（PPO、POD）、抗氧化活性物质（多酚、花色苷）和抗氧化能力之间存在密切相关性^[30]。Vijayanand 等^[31]研究发现，酚类物质在 pH 值为 6~7

时容易受酚酶作用而发生氧化反应，而多酚和花色苷作为荔枝中的一种水溶性酚类物质，柠檬酸能够螯合铜离子且可降低体系中的 pH 值，对酶活性具有明显的抑制作用，在一定程度上也对酚类物质起到保护作用并维持花色苷的稳定性，从而达到提高自由基清除能力的目的，Deng 等^[23]研究的结果也得出相同的结论。Vc 作为一种具有清除自由基的抗氧化剂，可减少果壳组织中的氧，对抑制 PPO 和 POD 活性具有较好的效果，而钙离子对维持细胞壁的完整性具有促进作用，在一定程度上能够保护果壳组织结构，减少游离态酶的释放而延缓酶促反应的发生，进而降低酚类物质的酶促速率，对应抗氧化能力随之变化^[20]。综上，柠檬酸、氯化钙和 Vc 在降低酶促褐变方面存在协同增效作用，G3 组是维持冻融荔枝果壳抗氧化性成分的有效方式。

2.6 微观结构变化

冰晶是在纤维之间和细胞内部间隙形成的，经解冻处理后，冰晶的消长后会破坏细胞结构并导致大量的汁液流失，进而对冻品的品质和质地造成负面影响^[32]。如图 6 所示，使用扫描电镜比较不同前处理后冻融荔枝果壳微观结构变化。新鲜荔枝细胞外部表面光滑，结构平整，组织质地均匀分布且排列紧密，无空隙、变形及断裂现象。经过冻融处理后，细胞结构出现一定程度的劣变，细胞间隙扩大和致密结构破坏。Cheng 等^[33]研究不同冻结结晶对蓝莓表皮的显微结构时也发现，冻融处理后蓝莓表皮细胞层出现破裂，细胞间的层次结构发生混淆。通过 SEM 图可得知，CK 组细胞受到破坏的程度较大，导致组织完整性部分缺失，致密结构被破坏以及间隙扩大，造成水分更易渗出胞外而引起严重的汁液流失，处理效果最差。经前处理后的冻融荔枝果壳质构破坏程度相对较小，细胞结构较 CK 组相对更完整、缝隙小，细胞壁结构受到破坏的程度较轻。其中，G1 与 G2 处理组之间的细胞结构劣变程度无显著差异，G4 与 G3 处理组之间细胞结构劣变程度差异显著，说明单独的柠檬酸和 Vc 组合，并不能体现出 Vc 的保护效果，当 CaCl_2 存在时，展现出对细胞特性的一定保护作用；氯化钙处理组（G3、G4、G5、G6）具有显著的优势且较优于单纯护色组（G1、G2），这与相对电解质渗出率和汁液流失率变化实验结果一致。这可能是因为在钙离子、柠檬酸和 Vc 的协同作用下，渗透液在组织完整性和细胞损伤程度等方面具有显著的保护作用，以 G3

处理模式的微观结构最为完整, 可视作为处理效果最佳, 进而降低汁液流失率。因此, 综合物化品质变化, “8% $C_6H_8O_7$ +0.5% Vc+1% $CaCl_2$ ”为冻融荔枝护色与保脆的最适宜前处理模式。

2.7 果壳色泽与各理化指标的相关性分析

荔枝果壳色泽与其各理化指标的相关性分析如表 2 所示, 一般来说, 相关系数 $|R|$ 值在 0.8~1.0 之间视为极强相关; 0.6~0.8 之间视为强相关。由表 2 可知, 相关性顺序依次为 PPO 残余酶活力>抗氧化能力>硬度 \geq POD 残余酶活力>花色苷含量>汁液流失率>多酚含量>相对电解质渗出率; 其中果壳色泽与 PPO 残余酶活力、POD 残余酶活力、抗氧化能力、硬度、花色苷含量、汁液流失率达到极显著性水平, 而与抗氧化能力、硬度、多酚含量、花色苷含量呈负相关。由此可见, 荔枝经冻融处理后, PPO、POD 活性受到激活及细胞壁、细胞膜破坏导致的汁液流失及相对电解质渗出率越高, 酚类物质含量及抗氧化能力越低, 致使果壳色泽变化程度越高。

表 2 果壳色泽其各理化指标的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of physical and chemical indexes of pericarp browning

作用因素	果壳色泽	
	R	P
汁液流失率	0.80*	<0.05
硬度	-0.88**	<0.01
PPO 残余酶活力	0.90**	<0.01
POD 残余酶活力	0.88**	<0.01
多酚含量	-0.79*	<0.05
花色苷含量	-0.81*	<0.05
抗氧化能力	-0.89**	<0.01
相对电解质渗出率	0.76*	<0.05

注: ** 在 0.01 级别 (双尾), * 在 0.05 级别 (单尾), 相关性显著。

经过冻融处理后的荔枝, 细胞遭到不同程度的破坏, 导致组织完整性部分丧失、致密结构被破坏、间隙变大、水分更易渗出而带来严重的汁液流失。Liu 等^[34]研究发现果壳色泽变化与水分散失紧密相关, 而汁液流失是荔枝果壳色泽变化的诱因之一。另一方面, 在荔枝果壳色泽变化过程中, 果壳色泽变化的主要原因是多酚氧化酶 (PPO) 和过氧化物酶 (POD) 降解红色色素和氧化酚类物质, 这与

PPO 和 POD 及其底物之间的区隔性丧失有关^[35,36]。而酚类化合物作为酶促褐变中的主要底物, 其含量及种类也是影响果壳色泽变化的重要因素^[37]; PPO、POD 普遍存在于植物体内, 可在需氧条件下催化天然底物酚类化合物形成醌, 直接参与并进一步诱导褐变物质的产生, 对应也降低了果壳内部的自由基清除能力, 从而影响荔枝果壳色泽^[38]。综上, 荔枝细胞组织遭到冰晶的破坏, 导致细胞膜通透性增加, 引起细胞内容物外渗, 致使各类氧化酶活性增加后催化酚类物质并诱导果壳迅速褐变, 而酶类的激活是酶促褐变的主要因素。

3 结论

本实验以荔枝为对象, 研究了不同组合护色和保脆前处理对冻融荔枝解冻后果壳酚酶氧化、细胞完整性及褐变抑制特性的影响。结果显示冻融引起的细胞通透性增加和酶类物质的激活是影响冻融荔枝解冻后色泽变化的主要原因。不同组合护色保脆前处理对荔枝品质特性的影响差异显著性 ($P < 0.05$), “8% $C_6H_8O_7$ +0.5% Vc”和“1% $CaCl_2$ ”分别在护色、保脆上展现出优势, 并且三者之间具有协同增效作用此护色保脆组合是保护冻融荔枝果壳品质特性的最佳配方。其中, Vc 需在氯化钙存在时, 才能显现出对细胞完整性的保护效果; 0.5% Vc 与柠檬酸、氯化钙之间具有协同增效护色钝酶、保护质构的效果; 柠檬酸浓度越高对硬度的保护效果越好。本研究中对冻融荔枝的色泽及质构等品质特性做了初步的测定, 后续可进一步对风味物质、水分迁移和荔枝品种应用差异性等进行进一步的探究。

参考文献

- [1] 林冰君, 李湘鑫, 张远红, 等. 加工工艺对荔枝汁风味物质影响的研究进展[J]. 农产品加工, 2022, 19: 95-99.
- [2] YAO P, GAO Y, SIMALGANDARA J, et al. Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.): A comprehensive review of phytochemistry, medicinal properties, and product development [J]. Food & Function, 2021, 12(20): 9527-9548.
- [3] LIANG D, LIN F, YANG G, et al. Advantages of immersion freezing for quality preservation of litchi fruit during frozen storage [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(2): 948-956.
- [4] 吴炜俊, 程丽娜, 徐玉娟, 等. 液氮喷雾速冻及梯度解冻在荔枝品质保鲜上的优势[J]. 现代食品科技, 2022, 38(3):

- 105-114.
- [5] REICHEL M, WELLHÖFER J, TRIANI R, et al. Postharvest control of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp browning by cold storage at high relative humidity after enzyme-inhibiting treatments [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2017, 125: 77-90.
- [6] MOON K M, KWON E-B, LEE B, et al. Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products [J]. *Molecules*, 2020, 25(12): 2754.
- [7] CÖMERT E D, MOGOL B A, GÖKMEN V. Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables [J]. *Current Research in Food Science*, 2020, 2: 1-10.
- [8] JAIN V, CHAWLA S, CHOUDHARY P, et al. Post-harvest calcium chloride treatments influence fruit firmness, cell wall components and cell wall hydrolyzing enzymes of Ber (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) fruits during storage [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 56: 4535-42.
- [9] SU X, LIN H, FU B, et al. Egg-yolk-derived carbon dots@albumin bio-nanocomposite as multifunctional coating and its application in quality maintenance of fresh litchi fruit during storage [J]. *Food Chemistry*, 2023, 405: 134813.
- [10] YANG M, BAN Z, LUO Z, et al. Impact of elevated O₂ and CO₂ atmospheres on chemical attributes and quality of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) during storage [J]. *Food Chemistry*, 2020, 307: 125550.
- [11] UTRERA M, MORCUENDE D, ESTÉVEZ M. Temperature of frozen storage affects the nature and consequences of protein oxidation in beef patties [J]. *Meat Science*, 2014, 96(3):1250-1257.
- [12] MA J, ZHOU Z, LI K, et al. A gas-permeation controllable packaging membrane with porous microspheres as gas “switches” for efficient preservation of litchi [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(35): 10281-10291.
- [13] LI L, YAN X, LI J. The prolonging effect of natural plant extracts on the storage period of postharvest litchi [J]. *Horticultural Science and Technology*, 2021, 39(2): 254-262.
- [14] 吴炜俊,程丽娜,徐玉娟,等.液氮喷雾速冻在杨梅品质保鲜上的优势[J].现代食品科技,2020,36(10):140-146.
- [15] JIANG X, LIN H, SHI J, et al. Effects of a novel chitosan formulation treatment on quality attributes and storage behavior of harvested litchi fruit [J]. *Food Chemistry*, 2018, 252: 134-141.
- [16] SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA A, KUCHARSKA A Z, WIŃSKA K, et al. Composition and antioxidant activity of red fruit liqueurs [J]. *Food Chemistry*, 2014, 157: 533-539.
- [17] LI C, LI J, YAN S, et al. The mechanism of interaction between lotus rhizome polyphenol oxidase and ascorbic acid: Inhibitory activity, thermodynamics, and conformation analysis [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(5): e14047.
- [18] ALI I, ABBASI N A, HAFIZ I. Application of calcium chloride at different phenological stages alleviates chilling injury and delays climacteric ripening in peach fruit during low-temperature storage [J]. *International Journal of Fruit Science*, 2021, 21(1): 1040-1058.
- [19] KUMARIHAMI H P C, KIM J G, KIM Y-H, et al. Preharvest application of chitosan improves the postharvest life of ‘Garmrok’kiwifruit through the modulation of genes related to ethylene biosynthesis, cell wall modification and lignin metabolism [J]. *Foods*, 2021, 10(2): 373.
- [20] BATISTA M J, MARQUES M B F, FRANCA A S, et al. Development of films from spent coffee grounds’ polysaccharides crosslinked with calcium ions and 1, 4-phenylenediboronic acid: A comparative analysis of film properties and biodegradability [J]. *Foods*, 2023, 12(13): 2520.
- [21] CHOI I, LEE Y, LYU J S, et al. Characterization of ionically crosslinked alginate films: Effect of different anion-based metal cations on the improvement of water-resistant properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107785.
- [22] AWAD A H, PARMAR A, ALI M R, et al. Extending the shelf-life of fresh-cut green bean pods by ethanol, ascorbic acid, and essential oils [J]. *Foods*, 2021, 10(5): 1103.
- [23] DENG D, DENG C, LIU T, et al. Selective recovery of copper from electroplating sludge by integrated EDTA mixed with citric acid leaching and electrodeposition [J]. *Separation and Purification Technology*, 2022, 301: 121917.
- [24] RASMUSSEN C B, ENGHILD J J, SCAVENIUS C. Identification of polyphenol oxidases in potato tuber (*Solanum tuberosum*) and purification and characterization of the major polyphenol oxidases [J]. *Food Chemistry*, 2021, 365: 130454.
- [25] ALALI F A, SARCHESHMEH M A A, BABALAR M. Evaluating the effects of citric acid application on reducing decay, maintaining edibility and shelf life of peach fruits in cold storage [J]. *International Journal of Horticultural Science*, 2023, 10(2): 149-160.
- [26] HUGHES M D, HANSON B S, CUSSONS S, et al. Control of nanoscale in situ protein unfolding defines network architecture and mechanics of protein hydrogels [J]. *ACS Nano*, 2021, 15(7): 11296-11308.
- [27] YANG C, JANG S, PAK Y. A fully atomistic computer simulation study of cold denaturation of a β -hairpin [J]. *Nature Communications*, 2014, 5(1): 5773.
- [28] ZHOU L, LIU W, STOCKMANN R, et al. Effect of citric acid and high pressure thermal processing on enzyme activity and related quality attributes of pear puree [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2018, 45: 196-207.
- [29] MARTEMUCCI G, COSTAGLIOLA C, MARIANO M, et al. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health [J]. *Oxygen*, 2022, 2(2): 48-78.

- [30] HOSSAIN M S, RAMACHANDRAIAH K, HASAN R, et al. Application of oxalic acid and 1-methylcyclopropane (1-MCP) with low and high-density polyethylene on post-harvest storage of litchi fruit [J]. Sustainability, 2021, 13(7): 3703.
- [31] VIJAYANAND S, NAGASATHYA S, PETER B. Extraction, characterization and inhibition of polyphenol oxidase in solanum melongena [J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2021, 12(4292): 4292-4301.
- [32] CAO X, BAI G, ZHENG J, et al. Effects of freeze-thaw cycles on the texture of Nanguo pear [J]. Journal of Texture Studies, 2022, 53(5): 662-671.
- [33] CHENG L, WU W, AN K, et al. Advantages of liquid nitrogen quick freezing combine gradient slow thawing for quality preserving of blueberry [J]. Crystals, 2020, 10(5): 368.
- [34] LIU R, ZHU X, WANG J, et al. Activated release of chlorine dioxide gas from polyvinyl alcohol microcapsule (ethylcellulose/sodium-chlorite) hybrid films for active packaging of litchi during postharvest storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2023, 196: 112173.
- [35] WANG X, ZHANG X, JIA P, et al. Transcriptomics and metabolomics provide insight into the anti-browning mechanism of selenium in freshly cut apples [J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1176936.
- [36] LEE J H, KASOTE D M, JAYAPRAKASHA G K, et al. Effect of production system and inhibitory potential of aroma volatiles on polyphenol oxidase and peroxidase activity in tomatoes [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(1): 307-314.
- [37] EDDINE DERARDJA A, PRETZLER M, KAMPATSIKAS I, et al. Polyphenol oxidase and enzymatic browning in apricot (*Prunus armeniaca* L.): Effect on phenolic composition and deduction of main substrates [J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 196-206.
- [38] ARNOLD M, GRAMZA-MICHAŁOWSKA A. Enzymatic browning in apple products and its inhibition treatments: A comprehensive review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(6): 5038-5076.